

GIOVANNA PEITER CONTI

**ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DE CÃES COM
LEISHMANIOSE VISCERAL E DO CASO ÍNDICE DE
LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA EM
FLORIANÓPOLIS, SC**

**Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, como requisito
para a conclusão do Curso de Graduação
em Medicina.**

**Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2024**

GIOVANNA PEITER CONTI

**ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DE CÃES COM
LEISHMANIOSE VISCERAL E DO CASO ÍNDICE DE
LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA EM
FLORIANÓPOLIS, SC**

**Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, como requisito
para a conclusão do Curso de Graduação
em Medicina.**

Presidente do Colegiado: Prof. Dr. Edevard José de Araújo

Professor Orientador: Prof. Dr. Edmundo Carlos Grisard

Co-orientadora: Me. Amábilli de Souza Rosar

**Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina**

2024

Conti, Giovanna Peiter

Aspectos clínicos e laboratoriais de cães com leishmaniose visceral e do caso índice de leishmaniose visceral humana em Florianópolis, SC / Giovanna Peiter Conti. – Florianópolis, 2024.

56p.

Orientador: Edmundo Carlos Grisard.

Monografia (graduação em Medicina) – Universidade Federal de Santa Catarina – Curso de Graduação em Medicina.

1. Leishmaniose Visceral 2. Leishmania 3. Diagnóstico parasitológico 4. Comparação clínico-laboratorial

I. Aspectos clínicos e laboratoriais de cães com leishmaniose visceral e do caso índice de leishmaniose visceral humana em Florianópolis, SC.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, ao meu orientador Edmundo, que foi muito mais do que um professor. Acolheu-me desde o primeiro dia, despertando minha curiosidade pelo conhecimento científico e me guiando com sabedoria e empatia. Sua dedicação e paciência me ensinaram não apenas conceitos teóricos, mas lições valiosas sobre a vida e a jornada acadêmica. Serei eternamente grata por seus ensinamentos e por ser um verdadeiro mentor durante toda a minha graduação.

À minha co-orientadora Amábilli, que sempre se mostrou disposta a ensinar e ajudar, com um carinho e paciência incomparáveis. Sua vontade de compartilhar conhecimento fez toda a diferença e serviu de inspiração em cada etapa dessa jornada.

Aos meus colegas de laboratório, que me acolheram e ensinaram o que sabiam sobre pesquisa científica, mesmo quando eu ainda era uma completa iniciante. Obrigada por toda a paciência e por me guiarem com tanto cuidado.

Minha gratidão também vai à minha família, por todo o apoio incondicional, aos meus amigos, que estiveram presentes em todos os momentos, e ao meu namorado, que sempre me apoiou e me incentivou a seguir em frente.

Por fim, gostaria de agradecer à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) pela estrutura oferecida para o desenvolvimento dessa pesquisa, bem como às agências de fomento CNPq, CAPES e FINEP, que contribuíram com a infraestrutura do laboratório e possibilitaram a realização deste trabalho científico.

Cada um de vocês foi essencial para a realização deste trabalho, e sou profundamente grata por ter tido a oportunidade de compartilhar essa caminhada com todos.

RESUMO

Introdução: As leishmanioses são doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania* que acometem humanos e diversos mamíferos, com destaque para os cães. É endêmica na maior parte do Brasil, apresentando aumento do número de casos no Sul do País, com destaque para Florianópolis, SC.

Objetivos: Analisar o acometimento de cães naturalmente infectados e o diagnóstico do caso índice de LVH em Florianópolis, verificando correlações clínicas, laboratoriais e parasitológicas entre a LVC e a LVH.

Métodos: Em conjunto com uma médica veterinária, coletou-se a carga parasitária e as características clínicas e laboratoriais de cães naturalmente infectados pela LVC. Também foi feita a descrição laboratorial e parasitológica do caso índice de LVH em Florianópolis. Por fim, compararam-se os dados entre as duas doenças.

Resultados: Tanto os cães quanto o paciente-índice analisados apresentaram alterações similares em seus exames laboratoriais. Percebeu-se intensa correlação clínica, laboratorial e parasitológica entre as duas espécies.

Conclusões: A LVC e a LVH apresentam características clínicas e laboratoriais semelhantes. Tanto em humanos quanto em animais, as principais alterações envolvem provas hepáticas, hematológicas e inflamatórias. Há uma tendência ao diagnóstico tardio em ambas as doenças.

Palavras-chave: Leishmaniose Visceral, *Leishmania*, Diagnóstico parasitológico, Comparação clínico-laboratorial.

ABSTRACT

Background: Leishmaniasis are diseases caused by protozoa of the genus *Leishmania* that affect humans and various mammals, especially dogs. It is endemic in most of Brazil, with an increasing number of cases in the southern region, particularly in Florianópolis, SC.

Objective: To analyse the involvement of naturally infected dogs and the diagnosis of the index case of Human Visceral Leishmaniasis in Florianópolis, assessing clinical, laboratory, and parasitological correlations between CVL and HVL.

Method: In collaboration with a veterinary doctor, parasitic load and clinical and laboratory characteristics of dogs naturally infected by CVL were collected. Additionally, the laboratory and parasitological description of the HVL index case in Florianópolis was performed. Finally, the data between the two diseases were compared.

Results: Both the analysed dogs and the index-patient presented similar alterations in their laboratory tests. A strong clinical, laboratory, and parasitological correlation was observed between the two species.

Conclusions: CVL and HVL exhibit similar clinical and laboratory characteristics. In both humans and animals, the main alterations involve hepatic, hematological and inflammatory markers. There is a tendency toward late diagnosis in both diseases.

Keywords: Visceral Leishmaniasis, *Leishmania*, Parasitological Diagnosis, Clinical Laboratory Techniques.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de vida do <i>Leishmania infantum</i>.....	2
Figura 2A - Mapa do Município de Florianópolis (SC) apontando a localização geográfica de casos de LVC no período de 2010 a 2024.....	8
Figura 2B - Mapa do Município de Florianópolis (SC) apontando a localização geográfica dos primeiros casos de LVH no período de 2010 a 2024.....	9
Figura 3 - Representação dos aspectos clínicos gerais dos cães naturalmente infectados por <i>Leishmania infantum</i>.....	21
Figura 4 - Pesquisa para leishmaniose visceral em mielograma de crista ilíaca.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Carga parasitária a partir de fragmentos de pele dos cães naturalmente infectados por <i>Leishmania infantum</i>	19
Tabela 2 - Porcentagem de presença de sinais clínicos observados nos cães infectados por <i>Leishmania infantum</i>	20
Tabela 3 - Exames laboratoriais dos cães com diagnóstico de LVC.....	23
Tabela 4 - Valores mínimos e máximos dos exames solicitados entre 19/06/2017 e 27/06/2017.....	25
Tabela 5 - Eletroforese de proteínas no dia 21/06/2017.....	26
Tabela 6 - Sorologias e culturas realizadas no caso índice de LVH em Florianópolis.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEPSH	Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos
ELISA	Ensaio Imunoenzimático <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
GEP	Gerência de Ensino e Pesquisa
LC	Leishmaniose cutânea
LCH	Leishmaniose cutânea humana
LES	Lúpus eritematoso sistêmico
LMC	Leishmaniose mucocutânea
LPG	Lipofosfoglicanas
LV	Leishmaniose visceral
LVC	Leishmaniose visceral canina
LVH	Leishmaniose visceral humana
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PCR	Reação em cadeia da polimerase convencional
qPCR	Reação em cadeia da polimerase quantitativa
SUS	Sistema Único de Saúde
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 - Carta - SEI nº 114/2022/UGPESQ/SGPITS/GEP/HU-UFSC-EBSERH.....	44
Anexo 2 - Certificado Programa de Iniciação Científica Voluntária.....	45

SUMÁRIO

RESUMO.....	V
<i>ABSTRACT</i>.....	VI
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVO.....	11
3 MÉTODO.....	12
4 RESULTADOS.....	18
5 DISCUSSÃO.....	30
6 CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS.....	38
NORMAS ADOTADAS.....	43
ANEXOS.....	44

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças parasitárias causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. Em humanos, os parasitos do gênero são causadores de doenças com distintas manifestações clínicas, como a leishmaniose visceral (LV), a leishmaniose cutânea (LC) e a leishmaniose mucocutânea (LMC), a depender da espécie infectante e da modulação da resposta imune dos pacientes. Todas as espécies possuem uma epidemiologia semelhante: infectam diversos tipos de mamíferos, incluindo os seres humanos, e são transmitidas através da picada de flebotomíneos infectados, os vetores da doença.¹

Os parasitos do gênero *Leishmania* possuem dois estágios morfológicos principais: a forma amastigota e a forma promastigota. As amastigotas são formas intracelulares obrigatórias e observadas nas células do sistema fagocitário mononuclear do hospedeiro, representando a forma parasitária responsável pela patologia da doença. Já as promastigotas são flageladas e se encontram no trato intestinal do inseto vetor, caracterizando a forma infectiva do parasito para mamíferos, a qual é inoculada no momento do repasto alimentar do flebotomíneo.¹

O ciclo de transmissão das leishmanioses (Figura 1) se inicia quando uma fêmea de flebotomíneo se alimenta sobre um mamífero infectado com o parasito, realizando a ingestão de sangue, linfa e restos celulares junto da forma amastigota, em função da ação mecânica das peças bucais e da ação proteolítica da saliva do vetor, o qual passa então a também estar infectado. Dentro do inseto, as amastigotas que resistem à digestão proteolítica se transformam em promastigotas na região do trato intestinal e se multiplicam repetidamente, migrando posteriormente para a probóscide do inseto. Após esse processo, durante uma nova picada da fêmea de flebotomíneo infectada em um novo hospedeiro mamífero, as formas promastigotas metacíclicas infectivas são inoculadas junto da saliva do inseto, dando início à infecção de um novo hospedeiro, e, assim, perpetuando o ciclo de transmissão da doença.¹

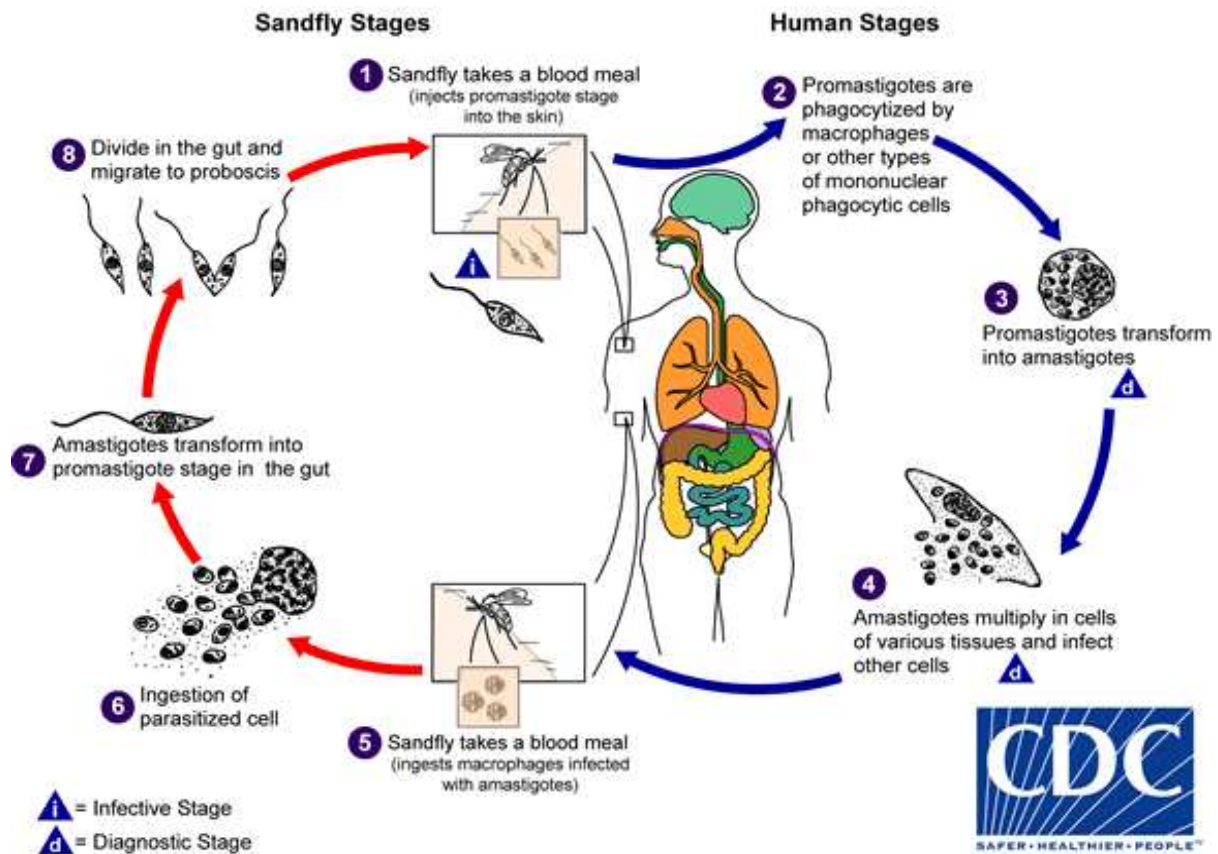


Figura 1 - Ciclo de vida do *Leishmania infantum*: A figura ilustra as principais etapas do ciclo de vida do parasita, que envolve a fase promastigota no vetor (mosquito flebotomíneo) e a fase amastigota no hospedeiro vertebrado (humano ou cão). O ciclo começa quando o mosquito infectado pica o hospedeiro, injetando formas promastigotas diretamente na corrente sanguínea. Essas promastigotas são fagocitadas por macrófagos, onde se transformam em amastigotas e se multiplicam, desencadeando a infecção. Ao sugar o sangue de um hospedeiro infectado, o mosquito ingere as amastigotas, que se diferenciam em promastigotas no intestino do inseto, completando o ciclo de transmissão. Retirada de <https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>

Após a inoculação pelo inseto vetor, as formas promastigotas metacíclicas são rapidamente opsonizadas pelo sistema complemento e fagocitadas pelas células do sistema fagocitário mononuclear, dentro das quais, resistem aos mecanismos de digestão celular e permanecem dentro dos vacúolos parasitóforos. A forma amastigota do parasito, então, se multiplica por mitose nos vacúolos dos macrófagos, apresentando um único núcleo, um cinetoplasto e um flagelo resquicial interno, não visível à microscopia óptica comum. Apesar de ambas as formas do parasito serem reconhecidas pelo sistema imunológico do hospedeiro,

estas possuem mecanismos que permitem contornar essa resposta, aproveitando-se dela para manter e perpetuar o ciclo de transmissão. A forma amastigota, por exemplo, mesmo após ser fagocitada, consegue se estabelecer e se multiplicar dentro da célula primordial de defesa, os macrófagos, expressando uma camada hidrofóbica de lipofosfoglicanas (LPG) e alterando o pH dentro dos vacúolos, inativando assim o processo de digestão proteolítica pelas enzimas lisossomais.¹ Esse ciclo de vida é crucial para compreender as manifestações clínicas tanto em humanos quanto em cães, onde a interação entre o parasita e o sistema imunológico do hospedeiro define a gravidade da infecção.

Nos humanos, a interação do parasita com o sistema imunológico pode resultar em diferentes formas de leishmaniose, desde manifestações localizadas, como na LC, até formas mais graves e disseminadas que afetam órgãos linfoides, como na LV. O protozoário *Leishmania infantum*, agente causador da leishmaniose visceral humana e canina, tende a provocar um parasitismo cutâneo generalizado na pele dos cães, com ou sem manifestação clínica aparente. Essa condição facilita a infecção do vetor e a transmissão da doença. Assim, a variação na carga parasitária presente na pele dos cães está relacionada com a capacidade infectante para o vetor, tornando essa amostra biológica um potencial biomarcador para avaliar o poder infectante dos cães.^{2,3}

Dentro das distintas formas clínicas das leishmanioses, este estudo abordará a leishmaniose visceral, causada pela espécie *Leishmania infantum*, com enfoque no acometimento canino e humano na cidade de Florianópolis, SC.

A leishmaniose visceral canina (LVC) pode apresentar uma ampla gama de manifestações clínicas, algumas das quais diferem das observadas em humanos. Os cães podem ser desde assintomáticos até desenvolverem um quadro clínico grave, mas de evolução lenta e gradual, usualmente caracterizado por diferentes sinais clínicos, como linfadenomegalia generalizada, perda ponderal, perda de apetite, lesões na pele, letargia, palidez mucosa, esplenomegalia, febre, vômitos e diarreia, dentre outros sintomas, podendo, inclusive, em quadros clínicos mais graves, evoluir ao óbito. Além disso, alterações laboratoriais frequentes incluem anemia normocítica e normocrômica não regenerativa, monocitose, trombocitopenia, azotemia renal, hiperproteinemia, hipoalbuminemia, isostenúria, glicosúria, proteinúria e elevação das atividades séricas de alanina aminotransferase e fosfatase alcalina.⁴

A leishmaniose visceral humana (LVH) é uma doença de notificação compulsória caracterizada por uma evolução lenta e pela presença de febre, hepatoesplenomegalia, e, por vezes, tosse e diarreia. Em sua fase aguda, a doença também pode causar palidez cutâneo-

mucosa. O quadro mais grave é manifestado por febre irregular, emagrecimento progressivo e agravamento da palidez cutâneo-mucosa e da hepatoesplenomegalia, com uma evolução que pode se arrastar por meses. Na fase terminal, o quadro evolui para febre contínua e comprometimento grave do estado geral, que cursa com desnutrição, edema de membros inferiores, icterícia e ascite, podendo haver infecções bacterianas secundárias e hemorragias fatais. O hemograma dos pacientes pode revelar anemia, trombocitopenia, leucopenia com predominância de células linfomonocitárias, inversão da relação albumina/globulina, velocidade de hemossedimentação elevada e proteínas totais e fracionadas alteradas, além de hiperglobulinemia. Pode haver também elevação nos níveis de aminotransferases, bilirrubinas, ureia e creatinina. No entanto, essas alterações nos parâmetros sanguíneos não são sinais patognomônicos da LVH.¹

Na leishmaniose cutânea humana (LCH), as formas amastigotas intracelulares permanecem restritas ao local de inoculação pelo inseto vetor. Em resposta, o sistema imune celular e humoral libera diversas citocinas, iniciando a formação de lesões que podem ser únicas ou múltiplas, indolores e de evolução progressiva. Em contraste, na LVH, os parasitas, pertencentes a espécies distintas das da LCH, migram preferencialmente para os órgãos linfoides.¹

Nos cães, o processo é diferente, pois eles apresentam células infectadas com amastigotas no tecido subcutâneo e também nos órgãos linfoides, que se espalham por todo o tecido, não permanecendo em local específico e usualmente não gerando lesões. Por conta disso, o cão tanto assintomático quanto sintomático apresenta um parasitismo cutâneo generalizado, o que contribui de forma significativa para a epidemiologia da transmissão da doença.⁴

O diagnóstico da leishmaniose visceral, tanto humana quanto canina, está baseado em três principais métodos: os métodos parasitológicos, os quais visam a identificação morfológica do parasito; os sorológicos, os quais visam a detecção de anticorpos anti-*Leishmania* spp.; e os métodos moleculares, os quais, através da amplificação do DNA do protozoário, permitem a sua detecção e identificação específica com elevada sensibilidade, além de permitir a quantificação da carga parasitária.⁵

O diagnóstico parasitológico da LV em cães é realizado primariamente pela punção aspirativa dos linfonodos, do baço ou da medula óssea, podendo ainda serem realizadas biópsias hepáticas, estas com menor valor preditivo. Entretanto, o mesmo não é válido para humanos. Por ser mais seguro e apresentar elevada sensibilidade, o mielograma é o teste que

acaba sendo o procedimento recomendado para o diagnóstico parasitológico da LVH, permitindo a identificação de formas amastigotas do parasito.

Para o diagnóstico da LV nos cães, os testes recomendados pelo Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral/Ministério da Saúde do Brasil, consistem nos testes sorológicos de triagem: o teste rápido *Dual Path Platform* e, como confirmatório da doença, o Ensaio Imunoenzimático *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).⁶ No entanto, testes diagnósticos com maior acurácia são extremamente importantes, considerando que, no Brasil, resultados falso-positivos podem levar cães não infectados à eutanásia e resultados falso-negativos podem resultar na manutenção de cães infectados sem controle na população.⁷

O diagnóstico da LVH também pode ser realizado através de exames sorológicos, como a imunofluorescência indireta e o ELISA, os quais identificam a presença de anticorpos anti-*Leishmania* spp. É importante lembrar que a intradermorreação de Montenegro, método que permite detectar o desenvolvimento de imunidade celular anti-*Leishmania* spp., mas que não indica infecção ativa em humanos ou animais, não possui valor preditivo positivo que seja considerável na LV.⁸

O diagnóstico molecular é realizado por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase convencional (PCR) ou quantitativa (qPCR), que permite a detecção do DNA do parasito em diferentes amostras biológicas, como pele, medula óssea, baço e linfonodos. A implementação da técnica de PCR vem sendo amplamente empregada para o diagnóstico da infecção de cães com LVC, por apresentar boa sensibilidade e especificidade⁹, especialmente quando testado por uma PCR direcionada para detectar o DNA do cinetoplasto do parasito.^{10,11}

O método de reação em cadeia polimerase apresenta 94% de sensibilidade no diagnóstico da LVH, sendo atualmente bastante utilizado tanto no diagnóstico da LVC como da LVH, método este que ainda permite a caracterização específica ou mesmo genética do parasito.⁸ Atualmente, a detecção de *L. infantum* utilizando-se qPCR em amostras de pele e obtidas de swabs oculares e retais tem apresentado resultados reprodutivos e com alta sensibilidade em ensaios desenvolvidos no laboratório de Protozoologia da UFSC.

No que concerne ao tratamento da LVC, desde 2016, somente o medicamento Milteforan® (Miltefosina ou hexadecilfosfocolina) possui autorização para comercialização e uso, sendo vedado o tratamento da LVC com medicamentos de uso humano ou não registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Cabe salientar que a Portaria nº 56 do Ministério da Saúde, de 30 de outubro de 2018, tornou pública a decisão de incorporar

a miltefosina para o tratamento da leishmaniose tegumentar humana, em primeira linha de tratamento, no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). Nos cães, os objetivos principais do tratamento da LVC com a miltefosina envolvem a redução da carga parasitária no hospedeiro e, conseqüentemente, a redução das chances de infecção de novos flebotomíneos, a regulação da resposta imune e a remissão dos sinais clínicos e das alterações de exames laboratoriais, melhorando a qualidade de vida do cão.⁴

Por sua vez, a miltefosina foi desenvolvida como um medicamento antitumoral cuja propriedade leishmanicida fora identificada desde a década de 1980. Sua posologia em cães é determinada pela dose de 2 mg por kg de peso vivo do animal, administrado por via oral, a cada 24 horas, durante 28 dias. A associação deste medicamento com terapias combinadas de fármacos com possível atividade sinérgica ou aditiva, com o objetivo de potencializar a eficácia terapêutica, tem sido uma opção considerada pelos Médicos Veterinários no tratamento da LVC. Alguns exemplos de medicamentos que têm sido associados são: alopurinol, que possui uma atividade leishmanióstática, baixa toxicidade e baixo custo, sendo administrado por via oral, a cada 12 horas, na dosagem de 10-15 mg/kg, podendo ser utilizado por 180 dias ou por tempo indeterminado; e domperidona, que tem ação imunomoduladora, com capacidade de aumentar a atividade fagocítica, sendo administrada na dose de 0,5 a 1,1 mg/kg/dia durante 30 dias. É importante salientar que a escolha do protocolo de tratamento é individual para cada caso e determinada pelo médico veterinário, a depender do estado clínico e dos exames laboratoriais do cão.⁴

Já no tratamento da LVH, as possibilidades de tratamento incluem o uso de anfotericina B, drogas antimoniais pentavalentes e paromomicina. Dentre essas, a anfotericina B lipossomal é a droga com maior eficácia terapêutica e a mais segura, sendo o tratamento de preferência na Europa, na América do Norte e na América do Sul.^{11,12}

No Brasil, o tratamento de primeira linha é feito com os compostos antimoniais na forma de sais trivalentes, sendo que a única formulação disponível e distribuída pelo Ministério da Saúde no País é o antimoniato N-metil glucamina. Essa droga atua inibindo a atividade glicolítica e a via oxidativa de ácidos graxos das formas amastigotas do parasito e a dose preconizada é de 20 mg de Sb⁵⁺ kg/dia, com aplicação endovenosa ou intramuscular, por 20 a 40 dias, com limite máximo de 2 a 3 ampolas/dia e bons índices de cura. Em casos avançados, sem resposta clínica nos 20 primeiros dias, o tratamento deve ser estendido para um prazo mínimo de 30 dias. É indispensável realizar uma ampla avaliação e estabilização das condições clínicas do paciente antes de se iniciar o tratamento, o qual deve ser feito a nível ambulatorial,

além de se tratar infecções concomitantes. O principal efeito colateral do medicamento é sobre o aparelho cardiovascular, causando distúrbios de repolarização e, por conta disso, deve-se realizar um exame de eletrocardiograma semanal e uma cuidadosa ausculta cardíaca, diariamente, após o 20º dia de tratamento até o término do mesmo. Em caso de arritmias, o tratamento deve ser suspenso e o paciente deve receber drogas alternativas. As contraindicações ao uso dos antimoniais incluem pacientes que fazem uso de betabloqueadores ou de drogas antiarrítmicas, pacientes com insuficiência renal ou hepática, mulheres grávidas e pacientes com alterações no intervalo QTC no eletrocardiograma.⁸

Caso a doença se apresente como recidivante, o tratamento com antimoniato deve ser repetido por um período mais prolongado, de até 40 dias. Somente após esse segundo ciclo e a confirmação da persistência da infecção, a doença é classificada como refratária ao tratamento. Nesse caso, inicia-se a utilização de esquemas alternativos com medicamentos de segunda linha.

As drogas utilizadas como de segunda linha, no Brasil, envolvem a anfotericina B, as pentamidinas e os imunomoduladores, todas administradas em ambiente hospitalar. Dentre elas, a anfotericina B é a mais potente, atacando as formas promastigotas e amastigotas do parasito ao se ligar com os ésteres presentes na membrana plasmática da *Leishmania*. Quando necessária, deve ser diluída e utilizada na dose de 1 mg/kg/dia em dias alternados, sempre por via endovenosa, em infusão lenta de 4 a 6 horas, com limite máximo de 50 mg/dose/dia. A anfotericina B possui inúmeros efeitos colaterais, sendo altamente tóxica ao leito vascular e cursando com flebite, cefaleia, febre, calafrios, astenia, dores musculares, vômitos, hipotensão, dispneia, cianose, entre outros, sendo as complicações renais as mais significativas. A associação de anti-inflamatórios não esteroidais inibidores de ciclooxigenase demonstrou ser uma boa estratégia para diminuir as reações previamente citadas. A anfotericina B lipossomal é uma nova formulação da anfotericina B que tem se mostrado vantajosa, mas apresenta custo muito elevado e, por isso, não é utilizada de rotina nos serviços hospitalares do País.⁸

Outras drogas alternativas disponíveis envolvem as pentamidinas, cuja eficácia é menor e cujos efeitos colaterais são maiores aos dos antimoniais pentavalentes e aos da anfotericina B. A dose utilizada é de 4 mg/kg/dia em dias alternados, não se devendo ultrapassar a dose de 2g. Os efeitos colaterais mais associados são astenia, anorexia, náuseas, dor abdominal, hipoglicemia, taquicardia, arritmias e insuficiência renal.⁸

O acompanhamento dos pacientes com LVH deve ser feito com 3, 6 e 12 meses após o tratamento e, se na última avaliação este permanecer estável, é considerado curado. As provas

sorológicas são pouco úteis para se avaliar a efetividade do tratamento, pois se negativam muito tardiamente.⁸

Até 2007, a região sul do Brasil não era considerada uma área endêmica para LV, com raros casos humanos reportados. Florianópolis, a capital do Estado de Santa Catarina, somente registrou o primeiro caso de leishmaniose visceral humana em 2017 e, até os dias atuais, foram registrados cinco casos de transmissão autóctone.¹³ Entretanto, o mesmo não pode ser relatado a respeito da LVC, pois, em 2008, foi reportado um surto da doença no Estado, incluindo casos em Florianópolis no ano de 2010. Até 2021, haviam sido notificados ao Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) da Prefeitura Municipal de Florianópolis (PMF) 776 casos de LVC.⁴

Assim, sabendo-se que os cães são os principais reservatórios domésticos do parasito *Leishmania infantum*⁴ e que a infecção canina, historicamente, precede a infecção humana em uma área de transmissão, a atual situação epidemiológica de Florianópolis é alarmante e deve servir de alerta para profissionais e órgãos da saúde, uma vez que já são registrados casos de LVC em todas as regiões do município, conforme dados compilados pelo CCZ/PMF no período de 2010 a 2023 (Figuras 2A e 2B).

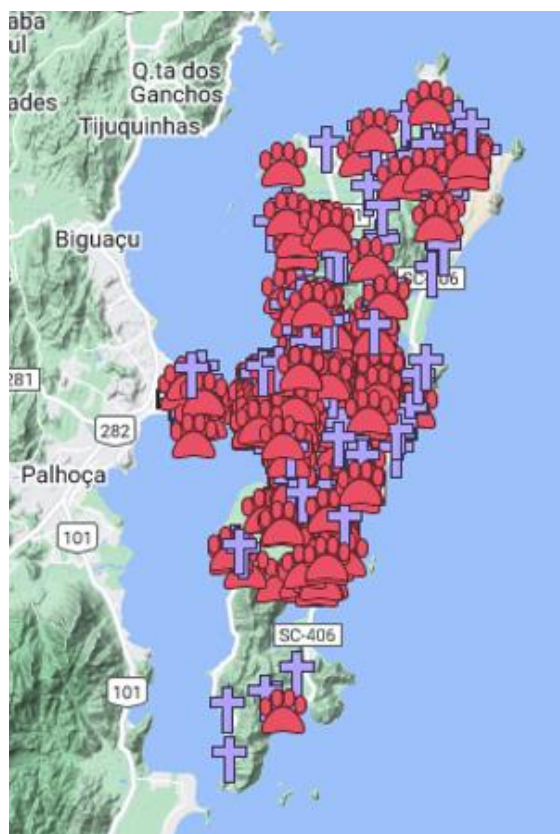


Figura 2A - Mapa do Município de Florianópolis (SC) apontando a localização geográfica dos casos registrados de LVC autóctone (símbolos vermelhos lembrando patas de animal) e os casos de LVC autóctone que foram eutanasiados (cruzes lilás) no período de

parasitológicos da LVC como forma de alertar os diferentes profissionais de saúde envolvidos na epidemiologia, diagnóstico, tratamento e controle da LVC e da LVH no Município de Florianópolis, assim como realizar a descrição do diagnóstico parasitológico do caso índice de LVH no município.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar correlações entre os aspectos clínicos e parasitológicos da Leishmaniose Visceral Canina e da Leishmaniose Visceral Humana através da análise clínica e das cargas parasitárias presente na pele de cães com LV e da descrição do diagnóstico parasitológico do primeiro caso de LVH no Município de Florianópolis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I - Analisar comparativamente as características clínicas e parasitológicas de cães naturalmente infectados por *L. infantum*;
- II - Determinar a carga parasitária em biópsias de pele de cães portadores de LV;
- III - Correlacionar os aspectos clínicos com a carga parasitária presente na pele dos cães;
- IV - Descrever o diagnóstico parasitológico do primeiro caso de leishmaniose visceral humana em Florianópolis;
- V - Verificar correlações clínicas e parasitológicas entre a LVH e a LVC.

3. MÉTODOS

3.1 Aspectos gerais:

O trabalho foi dividido em duas etapas, sendo 1) a coleta de biópsias de pele de 24 cães naturalmente infectados por *L. infantum* para quantificação da carga parasitária, juntamente com a análise dos aspectos clínicos e laboratoriais dos animais, e 2) a análise dos aspectos parasitológicos do diagnóstico do primeiro paciente confirmado com LVH (caso-índice) em Florianópolis, Santa Catarina.

3.2 Coleta de amostra biológica de pele, quantificação da carga parasitária e descrição de aspectos clínicos e laboratoriais em cães com LV:

3.2.1 Aspectos éticos:

A primeira parte deste trabalho foi realizada durante meu estágio de Iniciação Científica Voluntária que iniciou em Outubro de 2021 (<https://pibic.sistemas.ufsc.br/pub/verFormulario/1015072>) em conjunto com a Médica Veterinária Amábilli de Souza Rosar, MSc, cuja tese de doutoramento junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biociências da UFSC está relacionada a aspectos da LVC no Município de Florianópolis (SC). A coleta de amostras biológicas de cães naturalmente infectados por *L. infantum* foi realizada no âmbito do projeto intitulado "Estudo da eficácia do Milteforan no tratamento da leishmaniose visceral canina no Município de Florianópolis, SC: Avaliação de aspectos celulares e moleculares relacionados à resistência ao tratamento" aprovado pelo Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia MIP/CCB/UFSC (SIGPEX 202205709) utilizando procedimentos previamente aprovados no Comitê de Ética no Uso de Animais da UFSC (CEUA 6125020719/2019).

3.2.2 Biópsias de pele de cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum*:

As coletas de amostras biológicas dos cães ocorreram entre 2020 e 2022, durante o desenvolvimento do projeto de mestrado da Médica Veterinária Amábilli de Souza Rosar, utilizando os procedimentos descritos a seguir:

3.2.3 Procedimentos das coletas de amostras biológicas de cães:

As amostras biológicas de pele foram coletadas de cães naturalmente infectados por *L. infantum* provenientes do Centro de Controle de Zoonose (CCZ) do Município de Florianópolis e de clínicas veterinárias particulares que atendem e realizam tratamento de cães para LVC. Esses animais foram considerados positivos para LVC quando apresentaram resultados sororreagentes nos testes recomendados pelo Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral/Ministério da Saúde do Brasil, no teste rápido *Dual Path Platform* (TR DPP[®]) e no ensaio imunoenzimático *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), utilizado como teste confirmatório.⁶

Para a coleta das amostras biológicas de pele, foi realizada tricotomia da pele da região abdominal média, seguida de assepsia e anestesia local com lidocaína a 2%. Após a anestesia, foram coletados fragmentos de pele da região abdominal utilizando *punches* descartáveis estéreis de 5 mm de diâmetro, os quais foram armazenados em tubos contendo etanol 70% para a extração de DNA.⁴

3.2.4 Extração de DNA:

A extração do DNA das amostras biológicas de pele coletadas dos animais foi realizada utilizando-se o *DNeasy Blood & Tissue Kit* (QIAGEN[®]), seguindo o protocolo fornecido pelo fabricante. A concentração e a pureza do DNA extraído foram determinadas para verificar a qualidade das amostras pela razão de densidade óptica (OD) em 260/280 nm e 260/230 nm, em um equipamento *Picodrop Microliter UV/Vis Spectrophotometer*. As amostras extraídas foram então diluídas para uma concentração de 10 ng/μL e estocadas a -20 °C, para análises posteriores.⁴

3.2.5 Quantificação da carga parasitária em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum*:

Para a quantificação da carga parasitária da pele por PCR quantitativa em tempo real (qPCR), foi realizada uma curva padrão com o DNA extraído de formas promastigotas de culturas de *L. infantum*. Para a extração de DNA, os parasitos foram quantificados usando uma câmara de Neubauer e um total de 2×10^7 parasitos foram utilizados. A partir da dosagem do DNA resultante, foram realizadas diluições seriadas de 10 vezes para chegar ao equivalente a 2×10^0 parasitos. A quantificação da carga parasitária, utilizando a técnica de qPCR, foi baseada no protocolo proposto por Chagas et al., (2021)¹⁴, sendo este adaptado conforme os equipamentos e materiais disponíveis no Laboratório de Protozoologia (UFSC). As reações de qPCR foram preparadas com os iniciadores 150: 5'(C/G)(C/G)(G/C)CC(C/A)CTAT(T/A)TTACACCAACCCC 3' e 152: 5' GGGGAGGGGCGTTCTGCGAA 3', dirigidos à região conservada do kDNA de *Leishmania* spp. e que amplificam um fragmento de 120 pares de base.¹⁵ Para cada reação, foram utilizados 0,3 µL de cada iniciador a uma concentração de 10 pmoles/µL, 5 µL de *GoTaq® qPCR Master Mix* 2× (Promega), 0,1 µL de *CRX Reference Dye* a 30µM (Promega), 2,0 µL de DNA a uma concentração de 10 ng/µL, 2,3 µL de água deionizada (Promega) para completar o volume final da reação de 10 µL. As reações foram realizadas em microplacas de 96 poços (MicroAmp®) que foram seladas com adesivo óptico e analisadas no equipamento 7900HT *Fast Real-Time PCR System* do Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB/UFSC), utilizando o seguinte perfil térmico: um ciclo de desnaturação a 95°C por 10 minutos, seguido de 35 ciclos de 95°C por 15 segundos para completa desnaturação, 60°C por 1 minuto com aquisição da fluorescência neste momento. Após o período de amplificação, curvas de dissociação foram realizadas com uma ciclagem adicional, cuja temperatura aumenta de 60°C a 95°C a uma taxa de 0,3 °C por segundo, com aquisição de fluorescência contínua.⁴

Para a análise final, o limite de detecção se deu no 32º ciclo (*cut-off*). O fluoróforo *BRYT Green®* (Promega) foi utilizado como agente intercalante do DNA, permitindo quantificar o produto de PCR amplificado a cada ciclo da reação. Os resultados foram obtidos e analisados utilizando o programa *Sequence Detection Systems 2.4* (Applied Biosystems). Para todas as amostras, foram avaliados parâmetros e resultados, como a curva de dissociação, a intensidade de fluorescência a cada ciclo e a quantificação do número de cópias de DNA conforme a equação estabelecida pela curva padrão com as quantidades conhecidas de parasitos. Em seguida, de acordo com o protocolo proposto por Rolão et al. (2004)¹⁶, a quantidade de DNA detectada foi convertida em número de parasitos/miligrama de tecido (pele). Basicamente, usando um fator de correção, esse número de parasitos foi normalizado

pela quantidade de tecido utilizado na extração de DNA, juntamente com o volume no qual este DNA foi diluído para seu uso nas reações, sendo o resultado final reportado em quantidade de cópias de parasitos/mg de tecido e posteriormente transformados em logaritmos naturais (Ln).^{16,17}

3.2.6 Avaliação clínica e laboratorial:

A avaliação clínica dos cães foi realizada através da classificação de seus sinais clínicos a partir do preenchimento de uma ficha pela médica veterinária Amábilli Souza Rosar, que acompanhava cada animal. Dentre os sinais clínicos, avaliou-se a coloração das mucosas e a presença de ceratoconjuntivite, opacidade de córnea, blefarite, uveíte, alopecia, dermatite, hiperpigmentação e despigmentação da pele, edema de patas, paraparesia, onicogribose, linfadenopatia, falta de apetite, vômitos, diarreia, lesões em ponta de orelha, hepatomegalia, esplenomegalia palpável e amiotrofia facial. Após o preenchimento da ficha, foram solicitados e coletados pelos veterinários que acompanharam cada cão, exames laboratoriais para avaliar as condições hematológicas e bioquímicas do animal, avaliando-se as funções renal e hepática e os níveis de albumina, de globulinas e de proteínas totais. Com base nos resultados, os animais foram classificados em uma escala de escores de “1” a “5”, pontuando 1 o animal com sinais clínicos leves e 5 o animal com sinais clínicos acentuados, baseando-se nos critérios do BrasilLeish (<https://www.brasileish.com.br/>).¹⁸

3.3 Análise dos aspectos parasitológicos do caso índice de LVH em Florianópolis:

3.3.1 Aspectos éticos:

Para a segunda parte deste trabalho, inicialmente o submetemos à apreciação da Gerência de Ensino e Pesquisa (GEP) do Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago (HU/EBSERH/UFSC), tendo obtido a anuência expressa na Carta - SEI nº 114/2022/UGPESQ/SGPITS/GEP/HU-UFSC-EBSERH (Anexo 1). Na sequência, submeteu-se o projeto à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEPSH-UFSC), obtendo-se a autorização para acesso ao prontuário e aos exames laboratoriais do primeiro caso autóctone de LVH confirmado em Florianópolis (CAAE 63944222.0.0000.0121).

Após as devidas aprovações éticas, foi solicitado ao Serviço de Pesquisa de Prontuários (SPP) do HU/UFSC/EBSERH o acesso ao prontuário do paciente para a análise dos aspectos clínicos da infecção. Entretanto, não foi possível ter acesso ao mesmo uma vez que o setor responsável nos apontou a inexistência do prontuário em seus registros e arquivos, impossibilitando a análise dos dados clínicos do caso.

Desta forma, encaminhamos emenda ao projeto cadastrado na CEPESH/UFSC solicitando permissão para acesso aos exames laboratoriais do paciente realizados no laboratório de análises clínicas do próprio Hospital Universitário da UFSC à época de seu diagnóstico, o que foi devidamente aprovado.

3.3.2 Análise dos exames laboratoriais:

Tendo sido aprovado pelo CEPESH-UFSC o acesso aos exames laboratoriais do paciente, solicitamos ao Laboratório de Análises Clínicas do HU-UFSC os exames realizados pelo paciente no período entre 20/03/2014 e 21/08/2017, período no qual este estava sob investigação diagnóstica. A análise foi realizada na observância do disposto na Resolução 466/2012-CONEP/MS e na Carta Circular 166/2018-CONEP/SECNS/MS, sem expor os dados pessoais do paciente, apenas avaliando-se os exames laboratoriais realizados, visando a descrição dos aspectos hematológicos, bioquímicos, imunológicos e parasitológicos da infecção.

Cabe salientar que o Laboratório de Protozoologia participou como laboratório de apoio ao HU/UFSC/EBSERH quando do diagnóstico da infecção deste caso índice, tendo realizado o diagnóstico parasitológico, sorológico e molecular da etiologia, assim como o isolamento do parasito. A amostra isolada está depositada no criobanco do Laboratório de Protozoologia, o qual está registrado junto ao Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/MMA) sob número A206000.

3.4 Correlação clínica, laboratorial e parasitológica entre a LVH e a LVC:

Após a coleta e organização de todos os dados, realizou-se uma comparação entre os aspectos clínicos, laboratoriais e parasitológicos da leishmaniose visceral humana e da leishmaniose visceral canina, visando provocar uma reflexão sobre a similaridade das doenças, além de conscientizar os demais colegas da área da saúde a respeito do aumento dos casos de transmissão autóctone da LVH em Florianópolis, para que a doença passe a entrar no raciocínio

clínico e na investigação diagnóstica dos casos em que esta hipótese diagnóstica se aplica, preservando os pacientes de um possível agravamento do quadro por imperícia.

4. RESULTADOS

4.1 Características gerais dos cães naturalmente infectados por *L. infantum*:

Dentre os cães positivos para leishmaniose visceral acompanhados, havia 16 machos e 8 fêmeas. A maioria dos animais (67%) era sem raça definida. A idade dos cães variou de cinco meses a 12 anos, sendo que a maior parte (52%) estava na faixa etária de zero a quatro anos. A idade média foi de 5,2 anos.

Quanto ao tipo de pelagem, 58% tinham pelo curto, 29% pelo médio e 13% pelo longo. Em relação ao porte, 66% eram de porte grande, 17% de porte médio e 17% de porte pequeno. Sobre o tipo de domicílio, 54% dos cães viviam no peridomicílio (no exterior das casas), 29% no intradomicílio e 17% eram semidomiciliados (tinham acesso tanto ao interior quanto ao exterior das casas).

Os cães monitorados residiam em dois municípios da Grande Florianópolis: Florianópolis e São José. Em Florianópolis, os cães sororreagentes para LVC estavam distribuídos pelos bairros Armação do Pântano do Sul (1), Barra da Lagoa (1), Cacupé (1), Canto da Lagoa (2), Costeira do Pirajubaé (1), Daniela (1), Ingleses (1), Itacorubi (6), João Paulo (1), Praia da Joaquina (1), Rio Tavares (2), Rio Vermelho (2), Saco dos Limões (1), Sambaqui (1) e Vargem do Bom Jesus (1).

4.2 Carga parasitária na pele dos cães naturalmente infectados por *L. infantum*:

A detecção e a quantificação de *L. infantum* em amostras de fragmentos de pele de cães naturalmente infectados a partir da técnica de qPCR foi eficiente independentemente do estado clínico do animal, apesar de apresentar resultados variáveis entre as amostras, conforme demonstra a tabela abaixo:

Tabela 1 - Carga parasitária a partir de fragmentos de pele dos cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum*

Cão	Carga parasitária (Nº de parasitos/mg de tecido)
1	533.437
2	1.991
3	62.089
4	85.523.884
5	19.185
6	791.608
7	57.821.296
8	1.573
9	49.678.490
10	1.904.211
11	4.599
12	16.863.255
13	48.928.000
14	16.504.370
15	18.806.153
16	38.240
17	47,164
18	1.991.644
19	51.599.000
20	6.607.889
21	289.059
22	13.079.390
23	225
24	64.267

4.3 Sinais clínicos dos cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum*:

Com a avaliação dos aspectos clínicos dos cães estudados, observou-se que 20 cães apresentaram sinais clínicos comumente encontrados na LVC (84%), enquanto apenas quatro cães se apresentaram-se assintomáticos (16%). Os sinais clínicos mais observados, em ordem decrescente de prevalência, foram: linfadenopatia, onicogribose, lesão em ponta de orelha e hiperqueratose, sendo os demais quantificados conforme o apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Porcentagem de presença de sinais clínicos observados nos cães infectados por *Leishmania infantum*

Sinais clínicos	%
Linfadenopatia	83
Onicogribose	75
Lesão em ponta de orelha	62
Hiperqueratose	54
Dermatite	50
Mucosa hipocorada	45
Alopecia	45
Conjuntivite	33
Blefarite	33
Descamação	25
Amiotrofia facial	25
Edema de patas	20
Hiperpigmentação	16
Problema locomotor	16
Uveíte	12
Hepatomegalia	12
Despigmentação	8
Esplenomegalia	8
Falta de apetite	4

Epistaxe	0
Vômitos	0
Diarreia	0
Opacidade da córnea	0

A partir da observação e quantificação dos sinais clínicos nos animais (Figura 3), foi possível classificar os cães nos estádios I a V conforme os critérios propostos pelo Brasileish em 2018. Os resultados revelaram que quatro cães foram classificados no estágio I da doença (17%), nove cães em estágio II (38%), oito cães em estágio III (33%), três cães em estágio IV (12%) e nenhum cão em estágio V, perfazendo um total de 20 animais com algum sinal clínico compatível com a doença, não sendo observado nenhum animal com doença grave.

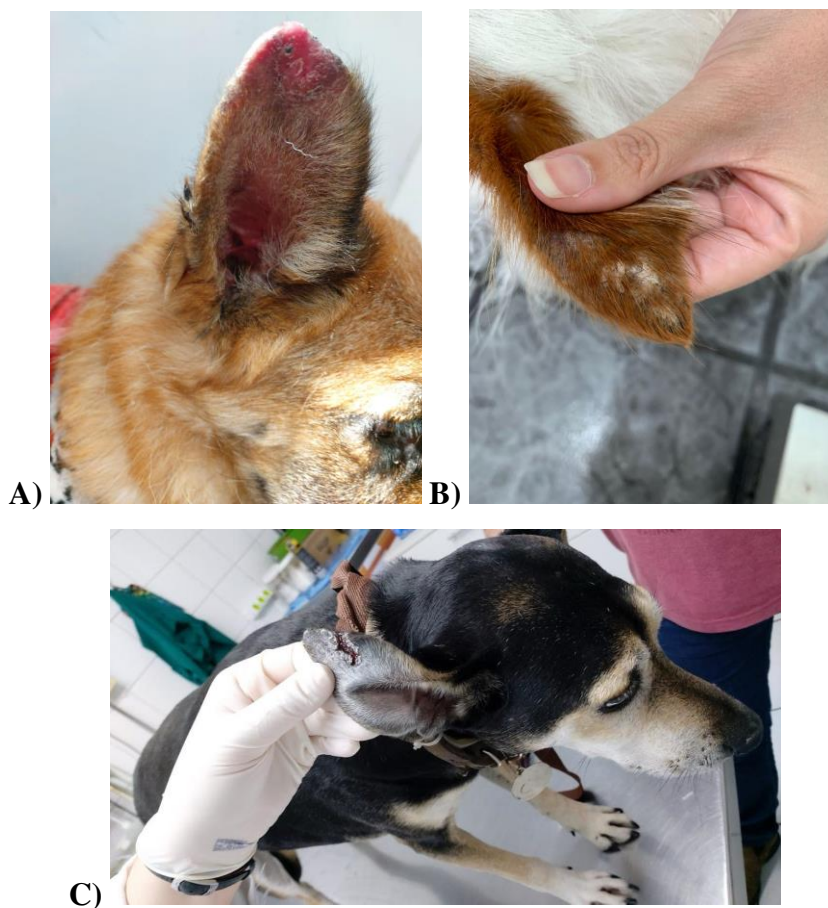




Figura 3 - Representação dos aspectos clínicos gerais dos cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum*. Imagens (A), (B) e (C) representando cães com lesão em ponta/bordo de orelha. Imagens (C) e (D) exemplificando cães com onicogribose. Imagem (F) ilustrando cão com linfadenopatia palpável.

4.4 Exames laboratoriais:

A análise laboratorial foi realizada com amostras de 21 dos 24 cães, não tendo prosseguido no estudo três animais por causas não relacionadas ao estudo. Foram realizados os seguintes exames: hemograma, proteínas totais, albumina, globulinas, creatinina, ureia, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina, cujos resultados estão apresentados a seguir, sendo destacadas nos exames laboratoriais as alterações da normalidade.

Tabela 3 - Exames laboratoriais dos cães com diagnóstico de LVC.

C ã o	Hematóc rito (%)	Proteí nas totais (g/dL)	Album ina (g/dL)	Globul ina (g/L)	Creatin ina (mg/dL)	Ureia (mg/ dL)	AL T (UI/ L)	AS T (UI/ L)	Fosf atas e alcal ina (UI/ L)
1	29	5,8	1,8	4	1,1	14	18	20	203
2	47	6,4	3,3	3,1	1,2	-	26	-	-
3	44	6,4	2,7	3,8	1	42	31	-	64
4	28	9,5	2,3	7,2	1	32	18	40	75
5	41	6,4	2,8	3,6	1,3	30	40	-	63
6	31	6,8	3,1	3,7	1	23	27	-	-
7	36	10	-	-	0,71	-	-	-	-
8	31	9	1,36	-	4,57	330	47	33	52
9	45	7,5	2,9	4,6	1,3	30	27	50	62
10	27	-	-	-	1,04	77	24	-	46
11	40	11,5	2,5	9	0,6	26	31	52	100
12	24,8	9	2,6	6,4	0,5	23	37	98	-
13	28,7	7,8	-	-	-	-	-	-	-
14	32	8,65	2,85	5,8	0,67	-	202	-	955
15	34	8,4	2,8	5,17	0,56	43	59	47	21
16	23,9	9	2,5	6,5	1	23	30	46	108
17	35	9,33	2,43	6,9	0,8	32	25	34	63
18	42	8,8	2,9	5,2	0,61	23	37	-	165
19	33	10,6	2,6	-	1	28	21	-	88
20	47	7,3	3,2	4,1	1,8	50	140	86	65
21	33	8,4	2,6	5,8	1	23	40	-	25

Apenas 4 dos 21 cães não apresentaram alterações laboratoriais nos exames pesquisados, o que resultou em uma porcentagem de 80,9% de cães com diagnóstico de LVC e com exames laboratoriais alterados.

Dentre as alterações, a mais frequente foi o hematócrito baixo, que ocorreu em 14 dos 21 animais (66,6%), seguido do aumento de proteínas totais, presente em 11 dos 21 cães (52%).

As demais irregularidades percebidas foram, em ordem decrescente de porcentagem de acometimento: aumento de globulina, aumento de fosfatase alcalina, diminuição de albumina, aumento de creatinina, aumento de ALT e de AST e aumento da ureia.

4.5 Análise do caso índice de LVH em Florianópolis:

Visando uma análise ampla da história clínica do paciente caso-índice de LVH em Florianópolis, o qual possuía 53 anos na época da infecção, para fins de estudo, foi proposto inicialmente a leitura e a coleta de dados a partir do prontuário médico deste, respeitando-se os aspectos éticos e todas as autorizações éticas devidas e necessárias. Entretanto, o resultado obtido para essa parte do trabalho foi de que o prontuário médico não foi encontrado nos arquivos do HU/EBSERH/UFSC, mesmo após dedicada procura pelos funcionários do Hospital. Após este fato, então, iniciou-se o estudo dos exames laboratoriais.

A análise dos exames laboratoriais do caso índice de LVH em Florianópolis, realizada a partir dos exames complementares solicitados durante as visitas do paciente no Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago (HU/EBSERH/UFSC), nos permitiu verificar que este foi primeiramente atendido no serviço de emergência no dia 18/06/2017, onde permaneceu até o dia 21/06/2017, quando foi internado na Unidade de Internação da Clínica Médica, provavelmente recebendo alta no dia 30/06/2017, quando os exames se encerram. Após dois meses, encontram-se exames solicitados pelo serviço do Ambulatório do HU no dia 03/08/2017. O paciente retorna a apresentar exames na emergência nos dias 09/08/2017 e 12/08/2017, sendo novamente internado na Unidade de Internação da Clínica Médica no período entre 14/08/2017 e 21/08/2017. Durante este período de internação, foi obtido o diagnóstico definitivo de leishmaniose visceral.

Os principais exames alterados, dentre os solicitados pela equipe médica durante o período, foram: provas hematológicas (hemograma, Hb, Ht, TTPA e TAP), provas hepáticas (TGO, TGP, bilirrubinas, LDH, fosfatase alcalina) e provas inflamatórias (PCR). Além disso, também foram registrados resultados de diversas sorologias e culturas como diagnósticos diferenciais, uma vez que a equipe médica considerou a possibilidade de infecção por outros agentes infecciosos. Entretanto, estas revelaram resultados negativos.

Com base nos exames laboratoriais, o paciente também fora atendido no serviço de emergência do HU/EBSERH/UFSC no período entre 19/03/2014 e 21/03/2014, tendo sido solicitados exames de análise do sangue, como Hb, Ht, TAP e TTPA, sem particularidades.

A partir do dia 18/06/2017, verifica-se uma modificação laboratorial significativa, com as provas hepáticas, hematológicas e inflamatórias bastante alteradas. Os resultados indicavam TGO = 350 U/L (VR = 10 a 40 U/L), TGP = 105 U/L (VR = 12 a 78 U/L), Proteína C Reativa de 186,5 mg/L (normal até 3 mg/L), anemia com Hb de 8 g/dL (VR = 13 a 18 g/dL) e Ht de 24,9% (VR = 40 a 52%) e um hemograma evidenciando hemácias com formato anormal, destacando-se a presença de anisocitose, hipocromia, pecilocitose, equinócitos, acantócitos e esquizócitos. O exame parcial de urina realizado no mesmo dia também revelou alterações, indicando a presença de urobilinogênio, flora bacteriana moderada e cilindros granulosos, considerando-se os valores de referência do laboratório do HU/EBSERH/UFSC que realizou os exames.

Do dia 19/06/2017 até o dia 27/06/2017, diversos exames foram solicitados diariamente de maneira sequencial, sendo as variações de valores mínimos e máximos para os mais relevantes dentre esses exames apresentadas na tabela a seguir:

Tabela 4 - Valores mínimos e máximos dos exames solicitados entre 19/06/2017 e 27/06/2017.

Exame	Valor mínimo	Valor máximo	Valor de referência	Unidade de medida
TGP	94	97	12 a 78	U/L
TGO	101	294	10 a 40	U/L
PCR	60,6	181,8	< 3	mg/L
Sódio	133	135	136 a 145	mEq/L
Hemoglobina	6,9	8	13 a 18	g/dL
Hematócrito	22,7	25,3	40 a 52	%
HCM	25	25,8	27,3 a 32,6	pg
VCM	79,7	85,7	80 a 100	fL
Leucócitos	1890	3330	3800 a 11000	p/mm ³
Segmentados	911	1649,4	1700 a 75000	mm ³
Linfócitos	518,7	960,8	1000 a 3500	mm ³
Monócitos	59,3	171	200 a 900	mm ³
Eosinófilos	0	10	20 a 670	mm ³
Plaquetas	85000	126000	150000 a 440000	p/mm ³

Através da análise da tabela 1 e dos exames do dia 18/06/2017, percebeu-se que, durante esse período, o paciente apresentou alteração significativa dos marcadores hepáticos, aumento dos marcadores inflamatórios, anemia microcítica e hipocrômica, leucopenia com diminuição de todas as linhagens imunológicas e trombocitopenia, ou seja, este paciente apresentou um quadro de pancitopenia.¹⁹

No dia 21/06/2017, novos exames foram solicitados para investigação, com destaque para a eletroforese de proteínas, dosando proteínas como albumina, alfa-1 e proteína monoclonal, apresentando resultados alterados, conforme demonstrado na Tabela 5.

Tabela 5 - Eletroforese de proteínas no dia 21/06/2017.

Exame	Valor máximo	Valor de referência	Unidade de medida
Proteínas totais	7,2	6,6 a 8,3	g/dL
Relação A/G	0,46	1,3 a 3	-
Albumina	2,27	3,5 a 4,85	g/dL
Alfa 1	0,55	0,22 a 0,43	g/dL
Alfa 2	0,96	0,55 a 1,08	g/dL
Beta-1	0,48	0,32 a 0,51	g/dL
Beta-2	0,38	0,24 a 0,54	g/dL
Gama	2,56	0,74 a 1,75	g/dL
Proteína monoclonal	Ausente	Ausente	-

Obs: aumento policlonal na região das gamaglobulinas

No dia 22/06/2017, observa-se dosagens de ferritina extremamente altas, atingindo o valor de 8.021,7 ng/mL (VR = 22 a 322 ng/mL) e o surgimento de células imaturas na circulação sanguínea, como bastonetes, metamielócitos e mielócitos.

Já no dia 23/06/2017, iniciou-se a pesquisa de anticorpos anti-nucleares (ANAs), como o fator antinúcleo (FAN), que resultou como reagente até a diluição de 1/160 (VR = não reagente), fator reumatoide (FR) de 292 IU/mL (VR ≤ 15 IU/mL) e anti-peptídeo citrulinado

cíclico (anti-CCP) de 46 U ($VR \leq 20$ U), com citoplasma pontilhado. Além disso, este paciente também apresentou complementos C3 e C4 reduzidos e hipergamaglobulinemia.

Por fim, no dia 28/06/2017, foi realizado o primeiro mielograma em crista ilíaca, que evidenciou uma medula óssea hipercelular nas séries granulocítica, eritroide e megacariocítica, indicando a presença de células anômalas e de parasitos inespecificados, sendo realizada imunofenotipagem, a qual apresentou 72,9% de série neutrofílica, 1,8% de monócitos, 3,4% de eosinófilos, 1,4% de linfócitos B (entre células maduras, Kappa e Lambda), 6,5% de linfócitos T (entre T CD4+, T CD8+ e T CD4-CD8-), 0,1% de células NK, 0,6% de células NKT, 10,9% de série eritroide, 1,9% de plasmócitos, 0,4% de células progenitoras CD34+ e 0,2% de outras células.

Os exames continuam nos dias 03, 09, 12 e 14 de agosto de 2017, mantendo-se o mesmo padrão de resultados, evidenciando-se atividade elevada da medula óssea e pancitopenia, além de sinais inflamatórios elevados, preservando-se os marcadores renais do paciente.

No dia 14/08/2017, foi realizado um segundo mielograma em crista ilíaca, cuja amostra foi também analisada pelo Laboratório de Protozoologia (MIP/CCB/UFSC), onde além das alterações celulares já descritas (medula óssea hipercelular, com células anômalas), foi detectada a presença de abundantes formas amastigotas intracelulares características de *Leishmania* spp. em promonócitos, sendo observáveis o núcleo e o cinetoplasto típico (Figura 4).

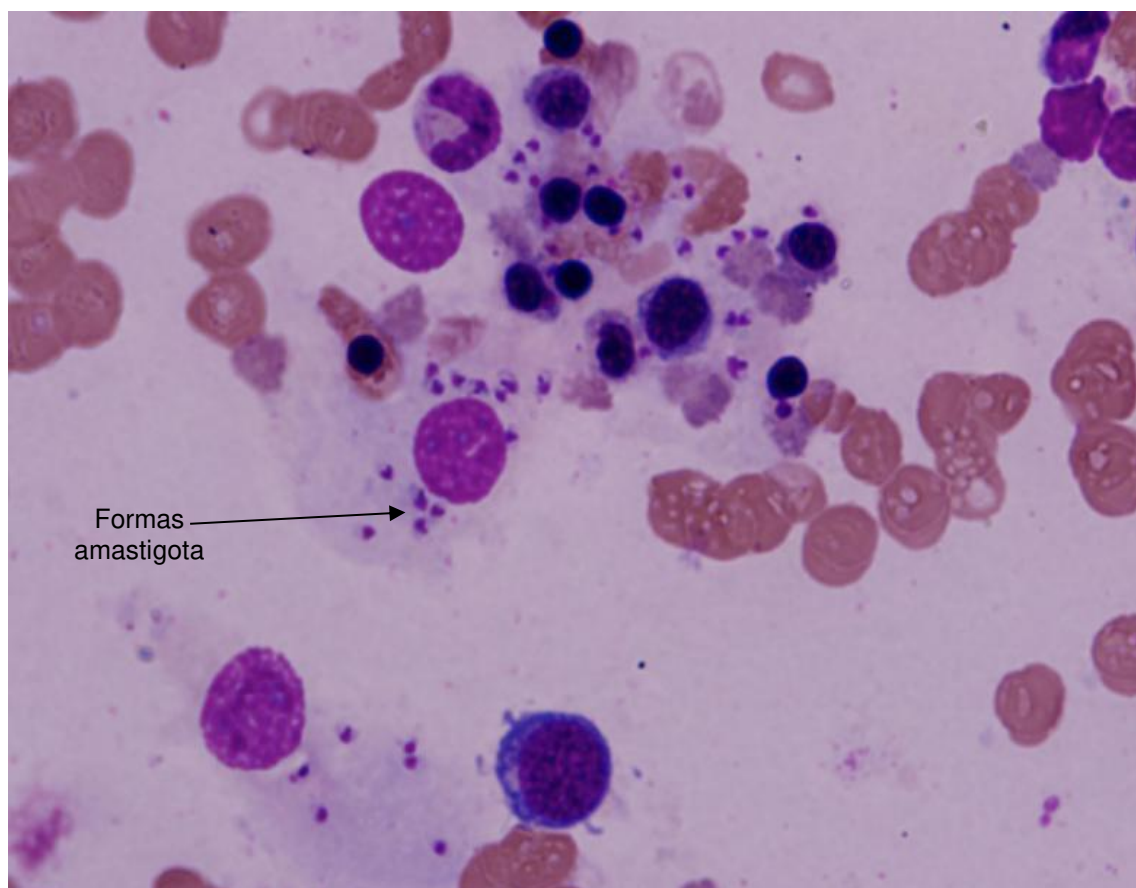


Figura 4 - Pesquisa para leishmaniose visceral em mielograma de crista ilíaca. Imagem cedida pelo Laboratório de Protozoologia da Universidade Federal de Santa Catarina (Aumento de 1.000 X).

Apesar do diagnóstico parasitológico ser conclusivo, no dia 15/08/2017, foram realizados ainda testes complementares para diagnóstico da LVH, como o teste da antiglobulina direto e a sorologia para leishmaniose, ambos com resultado positivo. Os últimos exames documentados deste paciente no banco de dados do laboratório de análises clínicas do HU/EBSERH/UFSC constam no dia 21/08/2017 e evidenciam uma melhora do quadro laboratorial inicial, com Hb de 7,8 g/dL, PCR de 35,3 mg/L, leucócitos 3330 p/mm³, segmentados de 1411,9 mm³ e plaquetas 128000 p/mm³.

Durante toda a investigação do quadro clínico, diversas hipóteses diagnósticas foram formuladas pelo corpo clínico, as quais acabaram sendo afastadas por conta dos resultados não reagentes. Inclusive, foi levantada a hipótese de uma doença autoimune ou de um linfoma, devido ao caráter laboratorial favorável a essas hipóteses diagnósticas, conforme especificado no trabalho de Bueno et al.²⁰

A tabela abaixo irá apresentar os exames solicitados para investigar os diagnósticos diferenciais e os resultados dos mesmos:

Tabela 6 - Sorologias e culturas realizadas no caso índice de LVH em Florianópolis

Exame	Datas	Resultado
HIV sorologia	18/06/2017, 19/06/2017 e 09/08/2017	Não reagente
VDRL	19/06/2017 e 09/08/2017	Não reagente
Anti-HCV	19/06/2017 e 09/08/2017	Não reagente
HBsAg	19/06/2017 e 09/08/2017	Não reagente
Cultura para BAAR	20/06/2017 e 21/06/2017	Ausência de crescimento
Pesquisa de BAAR	20/06/2017 e 21/06/2017	Ausência de bacilos
Teste rápido molecular para tuberculose	20/06/2017 e 22/06/2017	DNA não detectado
Cultura de vigilância de bacilos gram negativos	21/06/2017	Sem desenvolvimento
Leptospirose	20/06/2017	Não reagente
Hemocultura anaeróbios	21/06/2017 e 09/08/2017	Sem desenvolvimento
Hemocultura aeróbios e leveduras	21/06/2017	Sem desenvolvimento
Epstein Barr IgG	22/06/2017	Reagente
Epstein Barr IgM	22/06/2017	Não reagente
Toxoplasmose IgG	22/06/2017	Reagente
Toxoplasmose IgM	22/06/2017	Não reagente
CMV IgG	22/06/2017	Reagente
CMV IgM	22/06/2017	Não reagente
HTLV I e II	09/08/2017	Não reagente
Hemocultura aeróbios e leveduras	09/08/2017	Cocos gram + agrupados

5. DISCUSSÃO

A inspiração para este trabalho surgiu durante meu segundo ano de graduação, após cursar a disciplina de parasitologia no terceiro semestre do curso de medicina. Posteriormente, iniciei um estágio voluntário de iniciação científica no Laboratório de Protozoologia da UFSC (Anexo 2), onde atuei em projetos de pesquisa sobre leishmaniose visceral em Florianópolis por dois anos, até o início de 2023.

Durante o tempo em que passei estudando o assunto, a relevância da LV se tornou bastante evidente, principalmente sabendo-se que ela apresenta uma elevada prevalência mundial, chegando a apresentar de 700.000 a 1.000.000 de novos casos por ano, com uma taxa crescente de mortalidade.²¹ Isso me motivou a procurar mentores e a realizar este trabalho, objetivando principalmente uma maior conscientização de meus colegas de profissão a respeito da progressão epidemiológica dessa doença, que vem se destacando nos últimos anos no Sul do País e, em especial, no município de Florianópolis.

Ao participar ativamente das coletas de amostras de pele de cães naturalmente infectados pelos parasitas do gênero *Leishmania* na cidade de Florianópolis, a dimensão do problema que estamos enfrentando se tornou cada vez mais evidente. Isso porque esta cidade, com seu território provido de áreas de mata e de desmatamento, uma população expressiva de cães com tutores e de rua e uma elevada taxa de turismo, que também inclui cães de companhia, apresenta um cenário epidemiológico peculiar favorável a se tornar uma área endêmica.^{22,23,24} Além disso, se considerarmos a prevalência estimada pelos casos notificados pelo CCZ e pelo laboratório de análises, o número de veterinários que notificam a doença no município é ainda baixo, o que pode estar subestimando ainda mais o real número de animais acometidos.²¹ Assim, é preciso salientar o papel marcante dos cães para a disseminação dos parasitos, pois estes servem como um dos principais reservatórios devido ao seu acometimento cutâneo, que aumenta e facilita a infecção dos vetores.^{2,3}

Apesar do município de Florianópolis ter se tornado endêmico para a LV, cabe destacar que o vetor clássico da doença no Brasil, o *Lu. longipalpis*, ainda não foi identificado na região, sendo outras espécies, como *Pi. fischeri*, *Mg. migonei* e *Ny. neivai*, apontadas como possíveis vetores do *L. infantum*.^{25,26} A ausência deste vetor principal no município pode estar relacionada à baixa velocidade de propagação da doença entre humanos, podendo estas

espécies apresentarem baixa antropofilia. Entretanto, no contexto atual de aquecimento global e aumento da área de distribuição de espécies vetorais, é necessário manter cautela e vigilância epidemiológica.

Ademais, corroborando com o que pude perceber durante as coletas e com o que foi ilustrado, os resultados deste estudo mostraram que a linfadenopatia foi o sinal clínico mais comum, afetando 83% dos cães diagnosticados com LVC. A onicogribose ficou em segundo lugar e foi observada em 75% dos cães, o que está alinhado com pesquisas que reportam uma prevalência semelhante para estes sintomas.^{27,28,29} Outro sinal clínico notável foi a lesão em ponta/borda de orelha (62%), sendo este o sinal que mais me chamou a atenção, pois, quando presente, foi responsável por direcionar o raciocínio clínico facilmente para a LVC, apesar de não ser específico da doença.^{30,31,32,33}

A classificação dos cães em diferentes estádios clínicos revelou que a maioria estava nos estádios II (38%) e III (33%), indicando fases moderadas da LVC, enquanto nenhum animal foi classificado no estágio V. Esse resultado é bastante coerente, pois cães assintomáticos, que não são raros, dificilmente serão investigados como portadores, servindo como um eficiente reservatório do parasito e propiciando a disseminação da doença. Destaca-se que esse estadiamento clínico, acompanhado de exames laboratoriais, é fundamental para o manejo clínico e o prognóstico dos cães, visto que aqueles em estádios mais avançados têm menor chance de recuperação e maior risco de mortalidade.^{34,35}

Considerando o cenário endêmico da LVC no município de Florianópolis, a ocorrência de cinco casos humanos relatados até a presente data e a minha formação em medicina, buscamos revisitar o caso-índice de leishmaniose visceral humana em Florianópolis, o qual foi diagnosticado no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago (UFSC/EBSERH).

Obtivemos inicialmente autorização para termos acesso ao prontuário do paciente índice com o objetivo de detalhar sua progressão clínica e tratamento, utilizando como base a publicação relacionada ao caso.²⁰ Entretanto, devido à impossibilidade de obter maiores informações clínicas do mesmo em função da inexistência de seu prontuário no hospital de atendimento, revisamos os objetivos do estudo e obtivemos nova autorização para termos acesso aos exames laboratoriais existentes no laboratório de análises do HU/UFSC/EBSERH. Nesse sentido, a discussão do presente estudo resume-se à comparação dos aspectos laboratoriais em relação à descrição do caso.²⁰

A análise preliminar dos achados laboratoriais do caso-índice de LVH em Florianópolis revelou um aspecto importante: o paciente apresentou um quadro de investigação arrastado,

que demandou meses até o diagnóstico final, o qual ocorreu quando a patologia já se encontrava em uma fase moderada de evolução. Aqui, então, é possível fazer uma correlação interessante, pois tanto na espécie canina quanto na espécie humana, a tendência é que o diagnóstico da LV ocorra tardiamente. Isso pode ser resultante do caráter crônico, lento e inespecífico de evolução clínica da doença, a qual geralmente cursa com sinais gerais, como febre e hepatoesplenomegalia em ambas as espécies, apesar de as alterações cutâneas presentes nos animais facilitarem o diagnóstico da LVC.³⁶ Outra hipótese para essa conclusão é que a leishmaniose, por ser uma doença emergente na região Sul, ainda não esteja entre as principais suspeitas dos médicos e dos médicos veterinários que aqui trabalham.

Durante essa jornada, ficou evidente que ainda existem muitos desafios no diagnóstico clínico e laboratorial da LVC, principalmente por conta das diferentes formas clínicas e estádios da doença e de seus sinais inespecíficos, o que destaca a importância dos métodos moleculares, como a PCR, que podem oferecer uma maior confiabilidade independentemente das condições clínicas do animal.¹¹

Neste estudo, a técnica de qPCR, utilizada para quantificar a carga parasitária em amostras de pele de cães naturalmente infectados por *L. infantum* demonstrou-se específica e sensível, independentemente do estado clínico dos animais, com cargas parasitárias variando de 225 até 85.523.884 parasitos/mg de tecido. Esses achados reforçam a utilidade da qPCR, validada pela sua alta sensibilidade e especificidade, na avaliação precisa da infecção por LVC, podendo servir como uma importante ferramenta para driblar as dificuldades diagnósticas previamente citadas e permitir um melhor controle sobre a doença, assim como servir para supervisão de tratamento e cura, permitindo monitorar a carga parasitária.^{37,38}

Após muitos meses acompanhando o diagnóstico, o tratamento e observando a elevada prevalência da doença em cães, pude acumular experiência clínica e laboratorial prática, passando a me questionar o porquê de, após tantos anos morando na ilha, meu primeiro contato teórico com esta ter sido apenas na disciplina de parasitologia, pois até então nunca havia ouvido nada a respeito. Nesse sentido, consegui perceber que há, equivocadamente, um senso comum de que a LV seja uma patologia que acomete apenas a raça canina, não representando uma ameaça aos seres humanos. Inclusive, presenciei diversas vezes colegas de graduação e profissionais médicos afirmando que não há casos da doença em seres humanos em Florianópolis. A partir daí, junto com meus mentores, senti a necessidade de expandir nossa pesquisa para a esfera da medicina humana, visando principalmente derrubar essa ideia de que não há relação entre a espécie humana e a canina. Nesse sentido, sabendo-se que classicamente

o aumento de casos de LVC precede a ocorrência de casos de LVH, iniciamos nossa coleta de dados laboratoriais, clínicos e parasitológicos do caso-índice em Florianópolis, o qual ocorreu sete anos após a detecção dos primeiros casos caninos autóctones detectados na Lagoa da Conceição em 2010.

Ao estudar os resultados laboratoriais do paciente em questão, questionei-me a respeito de um primeiro atendimento ocorrido em 2014. Como não foi possível acessar o prontuário do mesmo e entender melhor a causa da busca por assistência médica, não se pode descartar que aquele episódio primário possuisse relação com a LVH posteriormente diagnosticada, visto que o período de incubação da doença é usualmente de 2 a 6 meses, mas pode variar entre algumas semanas para até mesmo anos.³⁹

A partir dos exames laboratoriais do segundo episódio de assistência no Hospital Universitário, pude verificar, de maneira geral, que o paciente apresentou alteração de provas hepáticas, hematológicas e positividade de marcadores inflamatórios. Encontrou-se a presença de anemia microcítica e hipocrômica, associada à leucopenia e à trombocitopenia, demarcando um quadro de pancitopenia. Essas alterações conferem resultados laboratoriais não específicos da leishmaniose visceral, mas que frequentemente estão presentes durante o curso da doença, tanto na espécie humana como na canina.³⁹ Entretanto, quanto aos cães estudados, apenas o quadro anêmico demonstrou similaridade ao quadro laboratorial humano, com raros animais apresentando alterações em funções hepáticas, apesar do acometimento esplênico-hepático que ocorre de forma similar aos humanos. Além disso, não se sabe exatamente a condição clínica do caso-índice de LVH ao realizar esses exames, podendo este ter estado em uma condição clínica e imunológica distinta dos cães avaliados.

Apesar do que foi citado, não há dúvidas que, quanto à eletroforese de proteínas, ambas as espécies apresentam intensa similaridade. O exame humano revelou importantes alterações nos níveis de proteínas séricas do paciente, destacando-se uma diminuição significativa da albumina (2,27 g/dL; VR: 3,5 a 4,85 g/dL) e um aumento policlonal das gamaglobulinas (2,56 g/dL; VR: 0,74 a 1,75 g/dL), com relação A/G de 0,46 (VR: 1,3 a 3). Na tabela 3, verifica-se o mesmo padrão para os cães, em sua maioria. Esses resultados indicam uma reação inflamatória crônica, frequentemente observada na LV, onde a hiperproteinemia, especialmente a hipergamaglobulinemia, é resultado da ativação policlonal das células B.³⁹

Ademais, gostaria de ressaltar os resultados laboratoriais obtidos no dia 23/06/2017 para o paciente em questão, os quais revelam a presença de FAN positivo até a diluição de 1/160, fator reumatoide (FR) elevado de 292 IU/mL, anti-CCP positivo de 46 U, complementos

C3 e C4 reduzidos e hipergamaglobulinemia. Estes achados são tipicamente associados a doenças autoimunes, como o lúpus eritematoso sistêmico (LES). No entanto, a presença desses marcadores em um paciente com LVH pode causar confusão diagnóstica, uma vez que a LVH pode desencadear uma resposta imunológica anômala semelhante à observada em doenças autoimunes. A hipergamaglobulinemia, frequentemente observada na LVH, resulta da ativação policlonal das células B, o que pode também ser um mecanismo envolvido na produção de autoanticorpos como FAN, FR e anti-CCP.²⁰

A similaridade entre os achados laboratoriais em pacientes com LVH e aqueles com LES pode levar a diagnósticos errôneos. A presença de autoanticorpos e o consumo de complemento na LVH ocorrem devido à resposta imunológica contra o parasita, que provoca uma inflamação sistêmica e pode mimetizar um quadro autoimune. Este mimetismo é um fenômeno bem documentado e pode ser observado em outros contextos de infecções crônicas que desencadeiam respostas imunes disfuncionais.²⁰

Por conta dessa peculiaridade entre a LVH e as doenças autoimunes, a abordagem diagnóstica em regiões endêmicas deve incluir testes confirmatórios para leishmaniose antes de iniciar tratamentos imunossupressores, pois estes podem exacerbar a infecção parasitária se a LVH for erroneamente diagnosticada como LES. Este cuidado é essencial, pois o uso de imunossupressores em um paciente com LVH não diagnosticada pode resultar em falência do tratamento e agravamento da condição clínica do paciente. Neste sentido, é novamente importante ressaltar e refletir sobre o papel da conscientização epidemiológica da LVH em Florianópolis, pois é essencial que os profissionais de saúde considerem a possibilidade de LVH em pacientes com perfis laboratoriais sugestivos de doenças autoimunes.²⁰

Agora quando analisamos o mielograma realizado no dia 28/06/2017, evidencia-se uma medula óssea hipercelular, com aumento significativo nas séries granulocítica, eritroide e megacariocítica, além da presença de parasitos. Esses achados são consistentes com a literatura sobre leishmaniose visceral humana, onde a hipercelularidade da medula óssea é uma característica comum, refletindo a resposta inflamatória exacerbada e a intensa produção de células hematopoiéticas em resposta à infecção parasitária.⁴⁰

Em cães, ao contrário dos humanos, a hipoplasia eritroide é frequentemente a principal alteração na medula óssea, apesar de as espécies se correlacionarem com níveis reduzidos de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito no sangue periférico, além de apresentar monocitopenia e linfopenia. É importante ressaltar aqui que a pancitopenia em humanos com LVH é geralmente atribuída ao hiperesplenismo, onde as células sanguíneas são capturadas e

removidas da circulação, ao invés de uma anormalidade primária na produção celular da medula óssea.³⁹

Em um segundo mielograma realizado em 14/08/2017, também analisado pelo Laboratório de Protozoologia (MIP/CCB/UFSC), evidenciou-se novamente uma medula óssea hipercelular com células anômalas, além da presença abundante de formas amastigotas intracelulares características de *Leishmania* spp. que, por sua localização patognomônica e clínica compatível, considerou-se como sendo *L. infantum*. Este achado confirmou o diagnóstico parasitológico da LV a partir de uma metodologia considerada como a forma mais tradicional de detecção direta do parasita via microscopia óptica.

A visualização direta do parasita por microscopia óptica foi durante muito tempo reconhecida como padrão-ouro para o diagnóstico da LV. Essa visualização pode ser feita a partir de amostras do baço, da medula óssea, de aspirados de linfonodos ou até mesmo com uma biópsia do fígado. A aspiração de medula óssea é a rotineira no Brasil, na Europa e nos Estados Unidos, corroborando com o que foi aplicado no paciente em questão.^{39,41}

A especificidade da microscopia direta é alta, mas a sensibilidade pode variar entre 53% e 86% para aspirados de medula óssea, com os melhores desempenhos sendo observados em aspirados de baço (93%-99%). Entretanto, para boas coletas de amostras, é necessário uma equipe bem preparada, o que acaba sendo mais desafiador para países e regiões em que a LVH ainda não está bem estabelecida, que acabam optando por métodos mais simples, mas de menor sensibilidade e especificidade.^{39,41}

Além da confirmação do parasito por microscopia óptica, foram realizados testes complementares, como o teste da antiglobulina direto e a sorologia para leishmaniose, ambos positivos. A sorologia, comumente usando métodos como ELISA, IFAT e testes rápidos baseados em rK39, oferece alta sensibilidade (80%-100%) e especificidade (80%-100%), corroborando neste caso o diagnóstico parasitológico.⁴¹

Aqui é possível realizar uma reflexão interessante, pois, em cães, apesar de também ser recomendada a realização de punção aspirativa em órgãos acometidos para diagnóstico parasitológico, é padronizada inicialmente a oferta de testes sorológicos de triagem e de técnicas de análise molecular através da detecção de DNA do parasito em amostras de outros locais, o que otimiza o rastreio da doença em cães de risco e auxilia no diagnóstico diferencial quando necessário. Considerando-se a atual situação epidemiológica da LVH no Estado de Santa Catarina, é de se pensar que a ordem na realização dos exames também seja invertida, implementando-se testes de triagem e moleculares, que são menos invasivos e menos operador-

dependentes, antes de um mielograma, principalmente em cidades em que a doença esteja se tornando emergente ou seja de transmissão endêmica, como Florianópolis.

Por fim, durante toda a investigação do quadro clínico, diversas hipóteses diagnósticas foram formuladas pelo corpo clínico, as quais foram afastadas por conta dos resultados não reagentes. Nesse contexto, pude perceber a grande inespecificidade sintomática da LV, muitas vezes se mostrando semelhante a outras patologias e infecções que também causam sintomas inespecíficos, como febre, mal-estar, esplenomegalia e pancitopenia. Ainda que nos cães, os sinais cutâneos evidentes direcionem o correto diagnóstico, nos seres humanos é preciso ter atenção a este ponto, pois não haverão, a princípio, características visíveis da doença. Portanto, ela deve ser considerada um diagnóstico diferencial importante, especialmente em áreas potencialmente endêmicas.

Em frente ao que foi exposto, percebemos que a leishmaniose visceral canina e a leishmaniose visceral humana apresentam características clínicas e laboratoriais semelhantes, destacando a importância dos cães como modelos valiosos para o estudo da progressão da doença.⁴⁰ Humanos e cães infectados exibem sintomas clínicos como febre, perda de peso, esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenopatia e hipergamaglobulinemia. Em ambos os casos, são observadas anormalidades hematológicas, incluindo anemia, leucopenia com linfocitose, neutropenia e trombocitopenia.³⁹

Sobretudo, gostaria de salientar o principal objetivo deste trabalho, que é ressaltar a potencialidade epidemiológica da LV em Florianópolis, Santa Catarina, visto que torna-se evidente a progressão dos casos caninos e humanos, assim como a similaridade clínica, laboratorial e parasitológica entre eles, favorecendo a propagação do parasito inter-espécies. Ainda, é necessário reforçar que, diante dos dados alarmantes, os colegas da área da saúde se habituem a incluir a LV em seu raciocínio clínico e em suas hipóteses diagnósticas, principalmente em casos inespecíficos, de ampla variedade de patologias possíveis de serem a causa.

6. CONCLUSÕES

- 1 - A leishmaniose visceral canina (LVC) determinada por *Leishmania infantum* é endêmica no Município de Florianópolis, onde os principais sinais clínicos identificados em cães são a linfadenopatia, a onicogribose e a lesão em ponta/borda de orelha, permitindo o estadiamento da maior parte dos cães nos estádios II e III;
- 2 - O paciente índice de leishmaniose visceral humana (LVH) no Município de Florianópolis apresentou quadro clínico arrastado, sendo seu diagnóstico conclusivo realizado quando a doença se encontrava em estágio moderado;
- 3 - A LVC e a LVH apresentam características clínicas e laboratoriais semelhantes, como por exemplo as similaridades na eletroforese de proteínas, demonstrando diminuição de albumina e aumento policlonal de gamaglobulinas, destacando a importância dos cães como modelos para o estudo de progressão da LV;
- 4 - Tanto em humanos quanto em animais, houve principalmente alteração de provas hepáticas, hematológicas e inflamatórias que podem sugerir o diagnóstico de LVH e LVC, respectivamente, entretanto há uma tendência ao diagnóstico tardio tanto na LVC quanto na LVH em função dos métodos laboratoriais utilizados e dos consequentes resultados inespecíficos;
- 5 - O caso-índice de LVH demonstrou uma medula óssea hipercelular, refletindo uma resposta inflamatória exacerbada que pode mimetizar doenças autoimunes, enquanto em cães, a hipoplasia eritroide é a alteração mais comum;
- 6 - Aliada ao mielograma em humanos e à punção de linfonodos em cães para busca de formas amastigotas de *L. infantum*, a técnica de qPCR se demonstrou específica e sensível, independentemente do estado clínico dos animais, podendo ser utilizada para otimizar o diagnóstico em humanos.

REFERÊNCIAS

1. Farrell JP. Leishmania, World Class Parasites: Volume 4. 1st ed. New York: Springer Science + Business Media; 2002.
2. Nogueira FS, et al. Use of miltefosine to treat canine visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Brazil. Parasites Vectors. 2019;79(12):1-11.
3. Borja LS, et al. Parasite load in the blood and skin of dogs naturally infected by *Leishmania infantum* is correlated with their capacity to infect sand fly vectors. Vet Parasitol. 2016;229:110-117.
4. Rosar A. Estudo da eficácia do Milteforan® no tratamento da leishmaniose visceral canina no município de Florianópolis, SC [dissertação de mestrado]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2022.
5. Ribeiro RR, et al. Relação entre sinais clínicos e patológicos e gravidade da leishmaniose canina. Rev Bras Parasitol Vet. 2013;22(3):373-378.
6. Ministério da Saúde. Leishmaniose Visceral: recomendações clínicas para redução da mortalidade. Departamento de Vigilância Epidemiológica; 2011.
7. Alves WA, Bevilacqua PD. Reflexões sobre a qualidade do diagnóstico da leishmaniose visceral canina em inquéritos epidemiológicos: o caso da epidemia de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1993-1997. Cad Saude Publica. 2004;20(1):259-265.
8. Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. 1ª ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2014.
9. Bern C. Visceral leishmaniasis: Treatment. In: UpToDate, UpToDate. Nov, 2022. Available from: https://www.uptodate.com/contents/visceral-leishmaniasis-treatment?search=tratamento%20leishmaniose%20humana&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H17.

10. Organização Pan-Americana da Saúde. Diretrizes para o tratamento das leishmanioses na Região das Américas. Segunda edição. Washington, DC: OPAS; 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.37774/9789275725030>.
11. Carvalho FLN, et al. Canine visceral leishmaniasis diagnosis: a comparative performance of serological and molecular tests in symptomatic and asymptomatic dogs. *Epidemiol Infect.* 2018;146(5):571-576.
12. Marcelino AP, et al. Comparative PCR-based diagnosis for the detection of *Leishmania infantum* in naturally infected dogs. *Acta Trop.* 2020.
13. DATASUS - Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde. DATASUS. <http://datasus.saude.gov.br/>. Acesso em: 01 de agosto de 2023.
14. Chagas UMR, et al. Correlations between tissue parasite load and common clinical signs in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet Parasitol.* 2021;291.
15. Degraive W, Fernandes O, Campbell D, Bozza M, Lopes U. Use of molecular probes and PCR for detection and typing of *Leishmania*: a mini-review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1994;89(3):463-9.
16. Rolão N, Cortes S, Santos-Gomes G, Campino L. Quantification of *Leishmania infantum* parasites in tissue biopsies by real-time polymerase chain reaction and polymerase chain reaction-enzyme-linked immunosorbent assay. *J Parasitol.* 2004;90(5):1150-4.
17. Tupperwar N, Sharma P, Smriti M, Thakur C, Singh S. Development of a real-time polymerase chain reaction assay for the quantification of *Leishmania* species and the monitoring of systemic distribution of the pathogen. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;61(1):23-30.
18. BrasilLeish. Diretrizes para o diagnóstico, estadiamento, tratamento e prevenção da leishmaniose canina. 2018;16.
19. UptoDate. Approach to the adult with pancytopenia [Internet]. Waltham (MA): UptoDate; [cited 2024 Sep 19]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/approach-to-the-adult-with->

[pancytopenia?search=pancitopenia%20o%20que%20%C3%A9&source=search_result&selectedTitle=1%7E150&usage_type=default&display_rank=1](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/search/pancitopenia%20o%20que%20%C3%A9&source=search_result&selectedTitle=1%7E150&usage_type=default&display_rank=1)

20. Bueno GCL, Koerich ATS, Burg LB, Kretzer SL, Del Moral JAG, Pereira IA. Visceral leishmaniasis mimicking systemic lupus erythematosus. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2019;52. doi: 10.1590/0037-8682-0208-2018.
21. World Health Organization (WHO). Leishmaniasis. Geneva: World Health Organization; 2024 [update 2024 April 8; cited 2024 June 5]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>.
22. Diretoria de Vigilância Epidemiológica. Leishmaniose Visceral Canina: informações para a população. 2020. Available from: <http://www.dive.sc.gov.br/index.php/d-a/item/leishmaniose-visceral>. Acesso em: 10/03/22.
23. Amaro AYG. Situação epidemiológica da Leishmaniose Visceral Humana e da Infecção Canina na zona urbana de Araguaína – TO, 2007 a 2014 [dissertação de mestrado]. Universidade Federal da Bahia; 2016.
24. Oliveira LCP. Soroprevalência da leishmaniose visceral canina no município de Dias D'Ávila, Bahia [dissertação de mestrado]. Universidade Federal da Bahia; 2003.
25. Catecati T. Leishmaniose visceral em Florianópolis: caracterização molecular das cepas de *Leishmania infantum* isoladas de casos locais e pesquisa vetorial [dissertação de mestrado]. Universidade Federal de Santa Catarina; 2018.
26. Steindel M, et al. Outbreak of autochthonous canine visceral leishmaniasis in Santa Catarina, Brazil. *Pesq Vet Bras.* 2013;33(4):490-496.
27. Alvar J, et al. Canine leishmaniasis. *Adv Parasitol.* 2004;57.
28. Baneth G, et al. Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends Parasitol.* 2008;24(7):324-330.
29. Verçosa BLA, et al. Transmission potential, skin inflammatory response, and parasitism of symptomatic and asymptomatic dogs with visceral leishmaniasis. *BMC Vet Res.* 2008;4:45.

- 30.Sudarshan M, Sundar S. Parasite load estimation by qPCR differentiates between asymptomatic and symptomatic infection in India visceral leishmaniasis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;80(1):40-42.
- 31.Dias AFLR, et al. Molecular detection of visceral leishmaniasis in dogs from Barão de Melgaço, Pantanal region of Mato Grosso, Brazil. *Pesq Vet Bras*. 2021;41.
- 32.Manzillo VF, et al. Prospective study on the incidence and progression of clinical signs in naive dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(5).
- 33.Manna L, et al. Evidence for a relationship between *Leishmania* load and clinical manifestations. *Res Vet Sci*. 2009;87(1):76-78.
- 34.Roura X, et al. Prognosis and monitoring of leishmaniasis in dogs: a working group report. *Vet J*. 2013;198(1):43-47.
- 35.Miro G, et al. Infectivity to *Phlebotomus perniciosus* of dogs naturally parasitized with *Leishmania infantum* after different treatments. *Parasites Vectors*. 2011;4:52.
- 36.Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. 1ª ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2006.
- 37.Lopes EG, et al. Serological and molecular diagnostic tests for canine visceral leishmaniasis in Brazilian endemic area: one out of five seronegative dogs are infected. *Epidemiol Infect*. 2017;145:2436-2444.
- 38.Travi BL, et al. Diagnosis and management of the reservoir living among us. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12.
- 39.Bern C. Visceral leishmaniasis: Clinical manifestations and diagnosis. In: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. Disponível em: <https://www.uptodate.com/contents/visceral-leishmaniasis-clinical-manifestations-and-diagnosis>. Acessado em 1 de julho de 2024.
- 40.Veras PST, de Santana MBR, Brodskyn CI, Fraga DBM, Solcà MS, de Menezes JPB, Leite BMM, Teixeira HMP. Elucidating the role played by bone marrow in visceral leishmaniasis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023 Oct 4;13:1261074. doi: 10.3389/fcimb.2023.1261074. PMID: 37860064; PMCID: PMC10582953.

41. Van Griensven J, Diro E. Visceral leishmaniasis: recent advances in diagnostics and treatment regimens. *Infect Dis Clin North Am*. 2019 Mar;33(1):79-99. doi: 10.1016/j.idc.2018.10.005. PMID: 30712769.

NORMAS ADOTADAS

Este trabalho foi realizado seguindo a normatização para trabalhos de conclusão do Curso de Graduação em Medicina, aprovada em reunião do Colegiado do Curso de Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina, **em 16 de junho de 2011.**

ANEXOS

Anexo 1: Carta - SEI nº 114/2022/UGPESQ/SGPITS/GEP/HU-UFSC-EBSERH.

SEI/SEDE - 24516516 - Carta - SEI

28/09/22 12:21



HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Rua Profa. Maria Flora Pausewang, s/nº - Bairro Trindade
Florianópolis-SC, CEP 88036-800
- <http://hu-ufsc.ebserh.gov.br>

Carta - SEI nº 114/2022/UGPESQ/SGPITS/GEP/HU-UFSC-EBSEH

Florianópolis, *data da assinatura eletrônica.*

CARTA DE ANUÊNCIA

Informo para os devidos fins e efeitos legais, objetivando atender as exigências para a obtenção de parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, e como representante legal da Instituição, estar ciente do projeto de pesquisa: **"ESTUDO COMPARATIVO ENTRE OS ASPECTOS CLÍNICOS, ANATOMOPATOLÓGICOS E PARASITOLÓGICOS DE CÃES COM LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA E ANÁLISE DESCRITIVA DO CASO ÍNDICE DE LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA EM FLORIANÓPOLIS"**, sob a responsabilidade dos Pesquisadores **Edmundo Carlos Grisard, Amábilhi de Souza Rosar e Giovanna Peiter Conti**.

Declaro ainda conhecer e cumprir as orientações e determinações fixadas na Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde e demais legislações complementares.

No caso do não cumprimento, por parte do pesquisador, das determinações éticas e legais, a Gerência de Ensino e Pesquisa tem a liberdade de retirar a anuência a qualquer momento da pesquisa sem penalização alguma.

Considerando que esta instituição tem condição para o desenvolvimento deste projeto, autorizo a sua execução nos termos propostos mediante a plena aprovação do CEP competente.

(assinado eletronicamente)

Maria Luiza Bazzo

Gerente de Ensino e Pesquisa

Portaria-SEI nº 116, de 15 de julho de 2021



Documento assinado eletronicamente por **Maria Luiza Bazzo, Gerente**, em 26/09/2022, às 18:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, caput, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ebserh.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **24516516** e o código CRC **01E54B78**.

Referência: Processo nº 23820.011286/2022-14 SEI nº 24516516

Anexo 2: Certificado Programa de Iniciação Científica Voluntária.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Pró-Reitoria de Pesquisa / PROPESQ

Predio Reitoria II (Edifício Santa Clara) -CEP 88040-900
Rua Desembargador Vitor Lima, 222, sala 302
Trindade - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil | www.propesq.ufsc.br / +55 (48) 3721-7417

CERTIFICADO

CERTIFICAMOS para os devidos fins que GIOVANNA PEITER CONTI desenvolveu no período de outubro de 2021 a setembro de 2024, com uma carga horária de 20 (vinte) horas semanais, junto ao Programa Voluntário em Iniciação Científica da Universidade Federal de Santa Catarina, o Projeto de Pesquisa: *“Estudo da eficácia do Miteforan no tratamento da leishmaniose visceral carina no Município de Florianópolis, SC”*, sob a orientação do(a) professor(a) EDMUNDO CARLOS GRISARD do DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA, IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA/CCB do CENTRO DE CIENCIAS BIOLOGICAS.

A autenticidade deste documento pode ser verificada no endereço: <http://formulario.pbic.ufsc.br/certificado/procurar>, através da digitação do CPF do autor bolsista

Pró-reitoria de Pesquisa
PROPESQ - UFSC

Florianópolis, 26 de setembro de 2024.

A autenticidade deste documento pode ser verificada no endereço: <http://pbic.sistemas.ufsc.br/certificado/procurar>, através da digitação do CPF da pessoa certificada